

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND**PRIORITY
DOCUMENT**SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)**10/524424**

RECEIVED

22 AUG 2003

WIPO

PCT

**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung**

BEST AVAILABLE COPY

Aktenzeichen:

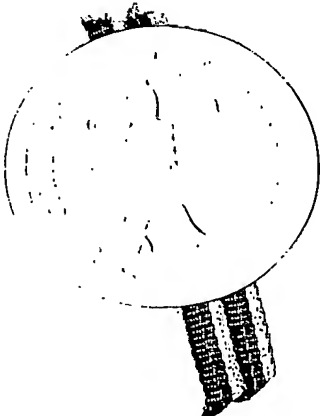
102 37 442.2

Anmeldetag:

16. August 2002

Anmelder/Inhaber:Fresenius Kabi Deutschland GmbH,
Bad Homburg/DE**Bezeichnung:**Hochverzweigte, niedrig substituierte
Stärkeprodukte**IPC:**

C 08 B und A 61 K

**Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ur-
sprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.**München, den 21. Juli 2003
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

fr39
15. August 2002
lud/ho
f:\B4\sp\Grenzlub001016.tif

FRESENIUS KABI DEUTSCHLAND GMBH

Eise Kröner-Strasse 1
D-61352 Bad Homburg v.d.H.

Hochverzweigte, niedrig substituierte Stärkeprodukte

Hochverzweigte, niedrig substituierte Stärkeprodukte

Die vorliegende Erfindung betrifft hochverzweigte, niedrig substituierte Stärkeprodukte: Insbesondere betrifft die Erfindung Stärkeprodukte, welche sich für den Einsatz als kolloidosmotisches Agens in der Peritonealdialyse sowie als Volumenersatzmittel (Plasmaexpander) eignen.

Als osmotisches Agens in der Peritonealdialyse wurde bislang überwiegend Glucose eingesetzt. Diese hat sich insbesondere bei kurzzeitig intermittierender Anwendung (Verweilzeit ca. 2 bis 3 Stunden) bewährt, ist nicht giftig, verträgt sich gut mit den anderen Inhaltsstoffen der Dialyselösung und ist unter nicht alkalischen Bedingungen dampfstabilisierbar. Darüber hinaus ist Glucose relativ kostengünstig. Dennoch stellt Glucose kein ideales Agens dar, da es im Verlauf einer Peritonealdialyse zu unerwünschten Nebenwirkungen kommen kann. So führen notwendigerweise unphysiologisch niedrige pH-Werte und hyperosmolare Lösungen zu Irritationen. Wegen schneller Reabsorption ins Blut stellen sich hohe Blutzucker- und Blutfettwerte ein. Daher lässt sich die Ultrafiltrationsleistung nur über relativ kurze Zeitspannen aufrechterhalten.

Ausser der Vermeidung von Nebenwirkungen und einer zu hohen Belastung der Peritonealmembran (durch häufigen Wechsel der Dialyselösung nimmt das Risiko einer Peritonitis zu) war es gerade bei der CAPD angezeigt, Glucose durch ein Agens zu ersetzen, welches eine längere Verweilzeit der Dialyselösung im Peritonealraum zulässt und damit die Belastung des Patienten reduziert. Man machte sich dabei die Erkenntnis zunutze, dass eine ausreichende Ultrafiltrationsleistung und Clearance von Lösungen nicht allein durch Einstellen eines osmotischen Drucks erzielt wird, sondern auch durch den von Makromolekülen hervorgerufenen sog. kolloidosmotischen Druck. Dadurch wurden Dialyselösungen auch im isosmolaren bzw. hypooosmolaren Bereich anwendbar.

Hierzu werden u.a. Glucose-Polymere eingesetzt, welche mittels Hydrolyse nichtmodifizierter Kornstärke gewonnen werden und Molekulargewichte von ca. 20.000 aufweisen (Icodextrin).

Die Verweilzeiten solcher Dialyselösungen betragen etwa 8 bis 12 Stunden. Mittels aktiver

BEST AVAILABLE COPY

Aufnahme über das lymphatische System werden zwar auch Makromoleküle reabsorbiert und sodann abgebaut, die Abbauprodukte in Form von Maltose und Glucose-Oligomeren werden jedoch als unkritisch angesehen.

Ein wesentlicher Nachteil solcher hydrolysierten Stärkefraktionen ist jedoch darin zu sehen, dass gering verzweigte oder unverzweigte Stärkefragmente zur Retrogradation neigen - allgemein bekannt für den Amyloseanteil von Stärke - und zu unerwünschten Ausfällungen führen können. Dies trifft umso mehr zu, wenn amylosereiche Stärken als Ausgangsbasis der Hydrolysate gewählt werden. Ferner neigen maltodextrinähnliche Stärkeprodukte unter Autoklavierungsbedingungen zur Bildung von unerwünschten und u.U. schädlichen Nebenprodukten wie Formaldehyd und Aldonsäuren.

Ein weiteres im Stand der Technik für die Ausbildung eines kolloidosmotischen Drucks prinzipiell einsetzbares Agens ist die als onkotisches Medium wirksame Hydroxyethylstärke (HES). Bei Untersuchungen von Typen im Molekulargewichtsbereich von 40.000 bis 450.000 und Substitutionsgraden von 0,5 bis 0,7 erwies sich hier jedoch als Nachteil, daß reabsorbierte HES und Bruchstücke davon in Milz, Lunge und Leber gespeichert werden, so dass der Einsatz von HES als kolloidosmotisches Agens als nicht unproblematisch einzustufen ist. Diese unerwünschte Speicherung von HES ist darauf zurückzuführen, dass auf Grund der hohen Substitution kein vollständiger Abbau von HES durch die körpereigene Amylase gewährleistet ist.

HES stellt das derzeit modernste und am weitesten verbreitete Volumenersatzmittel dar. Neben unterschiedlichen Zusammensetzungen des Fertigproduktes wird der Wirkstoff in verschiedenen Varianten eingesetzt, welche sich durch ihr Molekulargewicht sowie durch Substitutionsgrad und -muster unterscheiden.

Hydroxyethylstärken zeichnen sich grundsätzlich gegenüber anderen Volumenersatzmitteln, wie Gelatine, Dextranen oder künstlichen Kolloiden, durch eine hohe Verträglichkeit aus, die darauf beruht, dass als Ausgangsmaterial für HES Wachstumsstärke dient, ein spezieller Stärketyp, der

zu über 98% aus Amylopektin besteht, das in seinem chemischen Aufbau Ähnlichkeit mit dem körpereigenen Reservestoff Glykogen aufweist. Die restlichen ca. 2% bestehen aus

wenig bzw. kaum verzweigter Amylose.

Wie Glykogen ist Amylopektin aus Glucoseeinheiten aufgebaut, welche im Grundgerüst über α -1,4-Verknüpfungen und an den Verzweigungsstellen über α -1,6-Verknüpfungen miteinander verbunden sind. Amylopektin mit ca. 5% α -1,6-Verknüpfungen (an etwa jeder 20. Glucoseinheit) ist jedoch noch deutlich weniger verzweigt als Glykogen mit 10 bis 16% α -1,6-Verknüpfungen (jede 6. bis 10. Glucoseinheit). Amylopektin ist nicht wasserlöslich. Wäre es dies, würde es nach Infusion durch körpereigene Amylasen rasch abgebaut werden und wirkungslos bleiben. Durch beispielsweise mit Ethylenoxid oder Propylenoxid erfolgte Veretherung wird das Amylopektin wasserlöslich, wobei zusätzlich - in Abhängigkeit vom Substitutionsgrad (Veretherungsgrad) - der Abbau durch Amylase verlangsamt wird, was dann zusammen mit dem eingestellten Molekulargewicht die Wirkungsdauer von HES bestimmt.

Ein gravierender Nachteil aller bekannten hydroxyethylierten bzw. -propylierten Stärketypen ist darin zu sehen, dass durch die mehr oder weniger starke Substitution durch Hydroxyethyl- bzw. Hydroxypropylgruppen ein vollständiger Abbau durch Amylase nicht möglich ist. In Folge davon bleiben im Organismus Restfragmente zurück, welche nur sehr langsam eliminiert werden oder in diversen Organen/Geweben, wie z.B. Milz, Leber und Lunge gespeichert werden. Dies kann sich besonders kritisch bei höherer und/oder längerfristiger Dosierung auswirken. Es wird vermutet, dass die bekannten Nebenwirkungen, wie Flankenschmerz oder Juckreiz, u.a. darauf zurückzuführen sind.

Eine Verbesserung hinsichtlich des Speicherproblems brachte ein HES-Typ der Spezifikation 130/0,4, dessen Substitutionsmuster durch ein spezielles Herstellungsverfahren so optimiert werden konnte, dass der für den Angriff von Amylase relevante Anteil an Hydroxyethyl-Seitengruppen beibehalten, gleichzeitig jedoch der Gesamtsubstitutionsgrad erniedrigt wurde.

Die Speicherung von HES-Restfragmenten in Organen/Geweben liess sich damit zwar deutlich reduzieren, konnte jedoch nicht vollständig unterdrückt werden.

BEST AVAILABLE COPY

Der Erfindung lag daher die Aufgabe zu Grunde, ein Agens zur Verfügung zu stellen, welches über die vorteilhaften Eigenschaften der im Stand der Technik bekannten Hydroxyethyl- bzw. Hydroxypropylstärken verfügt, daneben jedoch die nachteiligen Eigenschaften der Speicherung von Restfragmenten in Organen und Geweben nicht mehr aufweist.

Es wurde gefunden, daß die Aufgabe mit einem hochverzweigten, niedersubstituierten Stärkeprodukt gelöst werden kann, d.h. mit einer Stärke, die einen signifikant höheren Verzweigungsgrad als Amylopektin aufweist bzw. über den α -1,6-Verzweigungsgrad von Glykogen verfügt bzw. diesen noch übertrifft und einen Substitutionsgrad MS von nur 0,05 bis 0,3 aufweist. Die erfindungsgemässen Stärkeprodukte weisen vorzugsweise einen Verzweigungsgrad von 8% bis zu 20% auf, was man durch einen Transglucosidierungsschritt mit Hilfe von Verzweigungsenzymen erreichen kann. Als Startmaterial hierzu kann im Prinzip jede Stärke herangezogen werden, bevorzugt jedoch Wachsstärken mit einem hohen Anteil an Amylopektin bzw. die Amylopektinfraction selbst. Wie bei den im Stand der Technik klinisch eingesetzten HES-Typen liegt das mittlere Molekulargewicht (M_w) - je nach Anwendung - vorzugsweise im Bereich von 10.000 bis 450.000 und das C_2/C_6 -Verhältnis im Bereich von 4 bis 20. Vorzugsweise werden für einen Einsatz in der CAPD Molekulargewichte im Bereich von 10.000 bis 40.000 und für einen Einsatz als Plasmaexpander Molekulargewichte im Bereich von 40.000 bis 450.000 herangezogen. Das bevorzugte C_2/C_6 -Verhältnis liegt im Bereich von 5 bis 9. Die Bildung von unerwünschten Nebenprodukten, wie beispielsweise Aldonsäuren und Formaldehyd, läßt sich durch dem Fachmann bekannte Verfahren zur Reduktion oder Oxidation der Aldehydgruppen am reduzierenden Ende vermeiden.

Durch den hohen Verzweigungsgrad der erfindungsgemässen Stärkeprodukte wird deren Wasserlöslichkeit so erhöht, daß auf eine höhere Hydroxyethyl- bzw. Hydroxypropylsubstitution verzichtet werden kann, um das Stärkeprodukt in Lösung zu halten. Damit wird dann zum einen eine Retrogradation und damit verbundene Ausfällungen vermieden, da diese nur an wenig oder unverzweigten amyloseähnlichen Strukturbestandteilen, die nicht oder nur sehr schwach substituiert sind, zu beobachten waren. Wegen der geringen Substitution durch Hydroxyethyl- bzw. Hydroxypropylgruppen treten durch den Abbau durch körpereigene Amylase erzeugte höhermolekulare Restfragmente, die durch Amylase nicht mehr weiter abbaubar sind und in Organen oder Geweben gespeichert

werden, nicht bzw. nur noch in geringfügigem Umfang auf. Darüber hinaus sind wegen der hohen physiologischen Ähnlichkeit mit dem körpereigenen Glykogen im Vergleich mit HES-Typen im Stand der Technik keine bzw. wesentlich weniger Nebenwirkungen zu erwarten.

Ausgehend von geeigneter hochverzweigter Stärke läßt sich nach an sich im Stand der Technik bekannten Verfahren mit minimalem Aufwand ein für die Peritonealdialyse geeignetes kolloidosmotisches Agens herstellen, welches sich problemlos auf ebenfalls bekannte Weise mit diversen Elektrolyten, Aminosäuren, Lactat, Acetat, Bicarbonat u.ä. sowie mit anderen osmotisch wirksamen Agentien, wie z.B. Glucose, kombinieren läßt. Ebenso läßt sich durch geeignete Wahl des Molekulargewichts ein Produkt zur Anwendung als Volumenersatzmittel erhalten, dessen Volumenwirkung durch die räumliche Aufweitung eines derart hochverzweigten Stärkeprodukts noch zusätzlich begünstigt wird. Darüber hinaus läßt sich durch die Wahl der Molekulargewichtsverteilung die Verweilzeit im Körper einstellen.

Die erfindungsgemässen Produkte zeichnen sich dadurch aus, daß sie über die im Stand der Technik bekannten Vorzüge von in der Volumentherapie eingesetzten Hydroxyethylstärken verfügen, deren typische Nachteile jedoch nicht mehr aufweisen. Dies zeigt sich besonders vorteilhaft in Anwendungsbereichen, wo Volumenersatzmittel in kurzer Zeit in größeren Mengen oder, wie z.B. bei einem Hörsturz, über längere Zeiträume appliziert werden müssen. Während beispielsweise für eine HES der Spezifikation 130/0,4 die Obergrenze für eine Verabreichung derzeit bei 2 g pro kg Körpergewicht und Tag liegt, lassen sich von den erfindungsgemässen Produkten größere Mengen problemlos applizieren.

Die erfindungsgemässen Produkte zeichnen sich darüber hinaus dadurch aus, daß sie die Vorteile bekannter kolloid-osmotisch wirkender Agentien für die Peritonealdialyse zeigen, ohne die Nachteile potentieller Retrogradation bzw. der bzw. der Bildung schädlicher Nebenprodukte aufzuweisen.

Die erfindungsgemässen Produkte können durch Modifizierung des mittleren Molekulargewichts sowohl in der Volumentherapie als auch in der Peritonealdialyse Einsatz finden.

Die Leistungsfähigkeit des erfindungsgemässen Stärkeprodukts wird in dem Zusammenhang des folgenden Beispiels näher erläutert.

Beispiel:

Untersuchung zur Gewebespeicherung nach wiederholter Verabreichung

An 48 weiblichen Ratten wurde eine kontrollierte Studie durchgeführt. Nach täglicher Infusion eines ¹⁴C-markierten erfindungsgemässen Stärkeprodukts (mittleres Molekulargewicht Mw 25.500 Da; molare Substitution 0,15; Verzweigungsgrad 12,4 mol-%) bzw. ¹⁴C-markierter HES 130/0,4 (mittleres Molekulargewicht 135.600; molare Substitution 0,41; Verzweigungsgrad 6,29 mol-%; jeweils 1g pro kg Körpergewicht) an 24 aufeinanderfolgenden Tagen wurden 2, 10, 22 und 46 Tage nach der letzten Verabreichung Leber, Lunge, Milz und Niere auf Gewebespeicherungen untersucht. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle wiedergegeben.

Wie aus der Tabelle ersichtlich, wurde gegenüber HES 130/04 eine signifikant niedrigere Speicherung des erfindungsgemässen Produkts ($P < 0,01$) in allen untersuchten Geweben erhalten. Diese Ergebnisse belegen klar, dass das erfindungsgemässe Produkt gegenüber dem Vergleichsprodukt zu einer deutlich reduzierten Gewebespeicherung führt.

BEST AVAILABLE COPY

Gemessene Radioaktivität in den untersuchten Geweben (in % der verabreichten Gesamtkaktivität)

Gewebe	2 Tage nach letzter Gabe		10 Tage nach letzter Gabe		22 Tage nach letzter Gabe		46 Tage nach letzter Gabe	
	Stärkeprodukt	HES 130/0,4	Stärkeprodukt	HES 130/0,4	Stärkeprodukt	HES 130/0,4	Stärkeprodukt	HES 130/0,4
Leber	0,20	1,30	0,06	0,31	0,02	0,20	0,01	0,06
Milz	0,01	0,06	0,01	0,04	0,00	0,02	0,00	0,02
Lunge	0,02	0,08	0,01	0,04	0,01	0,03	0,00	0,03
Niere	0,02	0,13	0,01	0,05	0,00	0,01	0,00	0,01

Patentansprüche

1. Modifiziertes, hydroxyethyl- oder hydroxypropyl-substituiertes Stärkeprodukt zum klinischen Einsatz dadurch gekennzeichnet, daß das Stärkeprodukt einen Verzweigungsgrad im Bereich von 8 bis 20 mol-% und einen Substitutionsgrad MS im Bereich von 0,05 bis 0,3 aufweist.
2. Stärkeprodukt nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es ein mittleres Molekulargewicht (Mw) im Bereich von 10.000 bis 450.000 aufweist.
3. Stärkeprodukt nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß es ein mittleres Molekulargewicht (Mw) im Bereich von 10.000 bis 40.000 aufweist.
4. Stärkeprodukt nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß es ein mittleres Molekulargewicht (Mw) im Bereich von 40.000 bis 450.000 aufweist.
5. Stärkeprodukt nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß das C_2/C_6 -Verhältnis im Bereich von 4 bis 20 liegt.
6. Stärkeprodukt nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß das C_2/C_6 -Verhältnis im Bereich von 5 bis 9 liegt.
7. Stärkeprodukt nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß es hydroxyethylierte Stärke ist.
8. Stärkeprodukt nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß seine reduzierenden Enden mittels Oxidation oder Reduktion inaktiviert sind.
9. Verwendung des Stärkeprodukts nach einem der Ansprüche 1 bis 8 als kolloid-osmotisches Agens in der Peritonealdialyse.

10. Verwendung des Stärkeprodukts nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß es ein mittleres Molekulargewicht (Mw) von 10.000 bis 40.000 aufweist.
11. Verwendung des Stärkeprodukts nach einem der Ansprüche 1 bis 8 als Plasmaexpander.
12. Verwendung des Stärkeprodukts nach Anspruch 11 dadurch gekennzeichnet, daß es ein mittleres Molekulargewicht (Mw) von 40.000 bis 450.000 aufweist.

BEST AVAILABLE COPY

Zusammenfassung

Die bekannten hydroxyethylierten bzw. -propylierten Stärketypen zur Verwendung als kolloidosmotisches Agens in der Peritonealdialyse oder als Volumenersatzmittel (Plasmaexpander) weisen den Nachteil auf, dass durch die mehr oder weniger starke Substitution durch Hydroxyethyl- bzw. Hydroxypropylgruppen ein vollständiger Abbau durch Amylase nicht möglich ist. In Folge davon bleiben im Organismus Restfragmente zurück, welche nur sehr langsam eliminiert werden oder in diversen Organen/Geweben, insbesondere bei höherer und/oder längerfristiger Dosierung, gespeichert werden.

Diese nachteiligen Eigenschaften lassen sich erfindungsgemäß mit einem hochverzweigten, niedrig substituierten Stärkeprodukt, d.h. mit einer Stärke, die einen signifikant höheren Verzweigungsgrad als Amylopektin aufweist bzw. über den α -1,6-Verzweigungsgrad von Glykogen verfügt bzw. diesen noch übertrifft und einem Substitutionsgrad MS von nur 0,05 bis 0,3 weitestgehend vermeiden.

BEST AVAILABLE COPY